

553,440

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
18 novembre 2004 (18.11.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/099525 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **E04D 1/00**

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/050181

(22) Date de dépôt international : 6 mai 2004 (06.05.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR0305544 7 mai 2003 (07.05.2003) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
BIOMERIEUX [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280
MARCY L'ETOILE (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **COLIN,**
Bruno [FR/FR]; 23 chemin des Garennes, F-69280
MARCY L'ETOILE (FR). **PAULHET, Frédéric** [FR/FR];
36 avenue de Lattre de Tassigny, F-69500 BRON (FR).

(74) Mandataire : **DENJEAN, Frédérique**; Chemin de
l'Orme, F-69280 MARCY L'ETOILE (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,

AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: REACTION MODULE FOR BIOLOGICAL ANALYSIS

(54) Titre : MODULE DE REACTION POUR L'ANALYSE BIOLOGIQUE

(57) Abstract: The invention relates to a reaction module for biological analysis comprising the injection of a biological liquid and/or reagent enabling a specific biological reaction comprising at least one means for controlling the amount of biological liquid and/or reagent thus injected.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un module de réaction pour l'analyse biologique comprenant l'injection de liquide biologique et/ou de réactif permettant une réaction biologique déterminée comprenant au moins un moyen de contrôle de la quantité de liquide biologique et/ou de réactif injecté.

WO 2004/099525 A2

Module de réaction pour l'analyse biologique

La présente invention concerne les appareils automatisés pour réaliser des tests immunologiques. L'invention concerne particulièrement un moyen de contrôle de ces tests.

5 La biologie médicale joue un rôle majeur dans la santé publique, que ce soit au niveau du diagnostic de la maladie, de la prise en charge du patient et de son traitement. Des instruments automatisés destinés aux analyses médicales et au contrôle de la qualité des produits des industries agro-alimentaires, cosmétiques... sont à ce titre, utilisés couramment en laboratoire.

10 Il existe sur le marché de nombreux appareils de diagnostic automatisés qui permettent notamment, par des dosages immunologiques, comme un test ELISA, la mise en évidence d'agents pathogènes, responsables de nombreuses maladies. Ces automates d'analyse immunologique mettent généralement en œuvre des étapes successives d'injection / aspiration automatisées de l'échantillon biologique que l'on souhaite analyser et de réactifs
15 pour la détection d'un ou de plusieurs agents pathogènes donnés. Ces automates permettent notamment le développement rapide et pour un grand nombre d'échantillon d'un test sandwich de type ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Ainsi, à titre indicatif, la première étape peut consister à coater sur les parois d'un support solide des anticorps de reconnaissance, spécifiques d'un antigène cible d'un agent pathogène donné,
20 que l'on souhaite mettre en évidence dans un échantillon biologique d'un patient. La deuxième étape consiste ensuite à mettre en contact l'échantillon biologique du patient avec lesdits anticorps de reconnaissance. Si l'échantillon du patient contient l'antigène cible, il se forme un complexe entre l'antigène cible et l'anticorps de reconnaissance. Les antigènes cibles fixés sur les anticorps de reconnaissance sont alors mis en contact avec des anticorps
25 de détection, marqués, qui permet de révéler la présence du sandwich anticorps de reconnaissance – antigène cible – anticorps de détection. De tels tests sont bien connus de l'homme du métier.

Comme exemple d'appareils automatisés pour des dosages immunologiques, on peut citer notamment, l'appareil VIDAS® qui est un automate multiparamétrique pour les

immunoanalyses. Cet appareil est composé d'un module analytique qui prend en charge automatiquement toutes les étapes de l'analyse jusqu'à l'édition complète des résultats. Le principe du test VIDAS® est basé sur l'utilisation d'un cône et d'une barrette de réaction :

- 5 • le cône est la phase solide de la réaction, et comprend les anticorps de reconnaissance coatés sur sa paroi. Il est à usage unique et fait office d'aiguille de prélèvement. Il est soumis durant le test à des étapes d'injection / aspiration afin de mettre successivement en contact les multiples réactifs du test.
- 10 • la barrette de réaction contient tous les réactifs prêts à l'emploi, repartis dans les différents puits de la barrette, et notamment les anticorps de détection. Un puit permet également le dépôt de l'échantillon que l'on souhaite analyser.

15 A chaque étape de l'immunoanalyse, le cône aspire et refoule plusieurs fois le réactif contenus dans les différents puits de la barrette jusqu'à l'étape finale de l'analyse. Le dernier puit de la barrette est la cuve de lecture où l'intensité finale de la réaction est mesurée en fluorescence.

20 D'une manière générale, ces appareils automatisés nécessitent un contrôle de bon fonctionnement qui doit être régulièrement effectué, afin d'éviter tout risque de faux positifs, c'est à dire indiquer au patient qu'il est malade alors qu'il ne l'est pas, mais aussi de faux négatifs, c'est à dire indiquer au patient qu'il n'est pas malade alors qu'il l'est. De tels faux négatifs peuvent être observés notamment lorsque l'injection des différents réactifs n'a pas lieu, ou que le volume de réactif n'est pas le bon volume. Outre une maintenance effectuée régulièrement, qui permet d'éviter de tels faux négatifs, ce contrôle peut se faire par la pesée des barrettes de réaction unitaires, avant et après le test, mais cela induit un

25 protocole lourd pour l'utilisateur. Le contrôle peut être également réalisé par des capteurs de pression, disposés au sein de l'automate, afin de détecter si l'échantillon, ou le réactif a bien été injecté. Ceci augmente toutefois le coût de fabrication des automates.

La présente invention se propose de résoudre l'ensemble des inconvénients de l'état de la technique en améliorant les systèmes de contrôle actuels des automates de dosage

biologique et en présentant un système de contrôle très simple et rapide, permettant une interprétation visuelle des résultats, de faible coût, sans nécessiter un étalonnage total de l'automate de dosage biologique.

5 Avant d'aller plus avant, il est donné quelques définitions afin de faciliter la compréhension de l'exposé de l'invention.

Par module de réaction, on entend tout dispositif apte à être inséré dans un automate de dosage biologique pour la réalisation d'une réaction biologique. A titre indicatif, ce module de réaction peut être une barrette de réaction comprenant plusieurs puits de réaction telle qu'utilisée dans les automates Vidas®, mais peut être également une microplaque de 96
10 puits, ou tout autre contenant utilisé par l'homme du métier pour réaliser des tests immunologiques.

Par liquide biologique, on entend tout liquide dans lequel on souhaite mettre en évidence la présence d'un antigène (ou d'un anticorps) donné. Ce liquide peut être ainsi un échantillon clinique de sang, d'urine, de salive, de plasma... Ce liquide peut être également un
15 échantillon alimentaire d'eau, de boissons, dans lequel on souhaite déterminer la présence d'un organisme (bactéries, parasites, virus...).

Préférentiellement, le liquide biologique est un échantillon clinique de sang, d'urine ou de plasma.

Par réactif, on entend toute solution chimique nécessaire au développement d'un test
20 immunologique. Une telle solution peut comprendre notamment les anticorps de reconnaissance, les anticorps de détection, mais aussi les solutions de lavage ...

Par réaction biologique, on entend toute réaction susceptible de mettre en évidence la présence d'un antigène (ou d'un anticorps) donné. Préférentiellement, cette réaction biologique est une réaction de reconnaissance antigène – anticorps.

25 Par moyen de contrôle, on entend un moyen permettant de mettre en évidence la présence de faux négatifs ou de faux positifs dans un test. Ce moyen de contrôle peut être notamment en papier absorbant, comprenant un colorant déshydraté susceptible de diffuser et de créer un signal colorimétrique lorsqu'il est en présence d'un liquide biologique et/ou d'un réactif. Ce moyen de contrôle peut permettre un contrôle quantitatif du volume

nécessaire de liquide biologique et/ou de réactif lors du test immunologique, et/ou un contrôle qualitatif.

A cet effet, la présente invention concerne un module de réaction comprenant au moins un puit de réaction pour l'analyse biologique comprenant l'injection de liquide biologique et/ou
5 de réactif permettant une réaction biologique déterminée et au moins un moyen de contrôle de la quantité de liquide biologique et/ou de réactif injecté caractérisée en ce que le moyen de contrôle est une bandelette colorimétrique calibrée.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le module comprend une échelle graduée le long de la bandelette pour une détermination visuelle du volume. Cette
10 bandelette colorimétrique calibrée permet ainsi un contrôle quantitatif de l'analyse biologique, par la vérification du volume injectée de liquide biologique et/ou de réactif lors de chaque étape de l'analyse biologique.

L'invention concerne également un module tel que défini précédemment caractérisée en ce que le moyen de contrôle est une pastille colorimétrique. Dans ce cas, la pastille
15 colorimétrique permet un contrôle qualitatif de l'analyse biologique, par la vérification de l'injection de liquide biologique et/ou de réactif lors de chaque étape de l'analyse biologique.

Les figures ci-jointes sont données à titre d'exemple explicatif et n'ont aucun caractère
20 limitatif. Elles permettront de mieux comprendre l'invention.

La figure 1 représente un premier mode de réalisation de l'invention. La figure 1a représente une vue de côté d'un module de réaction, qui est une barrette de réaction (1) comprenant un moyen de contrôle (2) selon l'invention. Ce moyen de contrôle est une bandelette en papier absorbant, comprenant une échelle volumétrique calibrée (4).
25 L'injection de liquide biologique et/ou de réactif s'effectue par un orifice (3), et le liquide diffuse le long de l'échelle volumétrique. Préférentiellement, l'échelle volumétrique calibrée (4) est intégré dans la barrette afin que l'utilisateur ne soit pas en contact direct avec le liquide biologique et/ou le réactif qui est absorbé par le moyen de contrôle (2). Ceci est important notamment lorsque le liquide biologique est susceptible d'être contaminé. Cette

barrette comprend 8 puits (5) de réaction. La figure 1b représente une vue de dessus d'une barrette de réaction (1) comprenant le moyen de contrôle tel que défini ci dessus.

La figure 2 représente d'une manière plus détaillée le moyen de contrôle (2) présenté dans la figure 1. On distingue alors successivement différentes couches qui se superpose sur la barrette de réaction (1) comprenant les puits (5). Une première couche absorbante (7) est déposée sur la barrette (1). Cette première couche comprend un colorant séché. Au dessus est placé une deuxième couche (8) en papier absorbant mais ne comprenant pas de colorant. Cette première et deuxième couche permettent d'obtenir un moyen de contrôle simple et peu coûteux : lorsqu'un liquide est en contact avec la deuxième couche (8), il diffuse à travers jusqu'à la première couche (7) en rehydratant le colorant qui diffuse à son tour au sein de la deuxième couche (8). Lorsque la deuxième couche (8) est coloré, cela signifie pour l'utilisateur qu'une injection de liquide a eu lieu. Enfin une dernière couche qui est un moyen de protection (9) tel qu'un film en matière plastique permet d'isoler le moyen de contrôle (2). On distingue alors un orifice (3) pour le dépôt de liquide, et une fenêtre de lecture (6).

La figure 3 représente différentes étapes successives réalisées lors d'un test immunologique. La figure 3a représente la première étape d'un test immunologique tel qu'un test Vidas® dans laquelle un cône de réaction (10) aspire dans le premier puit de la barrette un volume déterminé de liquide biologique. Ce cône de réaction (10) comprend sur sa paroi des anticorps de reconnaissance, qui forme avec les antigènes cibles du liquide biologique un complexe antigène – anticorps. La figure 3b représente la deuxième étape du test qui consiste à aspirer et refouler un réactif, tel que notamment un liquide de lavage contenu dans un deuxième puit, afin de supprimer les antigènes cibles qui se seraient mal fixés sur les anticorps de reconnaissance. Pour cela, le cône (10) passe automatiquement du premier puit de la barrette jusqu'au deuxième puit. L'ensemble du test se poursuit par des étapes successives d'aspiration / injection par le cône en contact avec les différents réactifs des différents puits. Ces étapes sont bien connues de l'homme du métier. A la fin du test, et tel que représentée figure 3c, une étape de contrôle est réalisée afin de déterminer si les étapes d'aspiration / injection ont été réalisées correctement. Pour cela,

l'automate prélève par le cône (10) un volume déterminé de liquide (qui peut être un liquide biologique, un réactif, ou une simple solution aqueuse) dans le dernier puit de la barrette de réaction, et dépose ce volume sur le moyen de contrôle (2). Le liquide diffuse alors au sein de la deuxième couche tel que présenté dans la figure 2 jusqu'à atteindre la première
5 couche comprenant un colorant. Ce colorant réhydraté diffuse alors jusqu'à atteindre la surface de la deuxième couche de colorant. Lorsque l'injection de liquide a lieu, l'utilisateur peut visualiser alors aisément la coloration qui diffuse le long de l'échelle volumétrique calibré, la diffusion étant proportionnelle au volume injecté. Cela permet ainsi un contrôle quantitatif aisé du test réalisé précédemment.

10 La figure 4 présente un autre moyen de contrôle selon l'invention. Le moyen de contrôle est alors une pastille colorimétrique, permettant un contrôle qualitatif des étapes d'aspiration / injection effectués lors du test.

REFERENCES

1. barrette de réaction
- 5 2. moyen de contrôle
3. orifice pour le dépôt de liquide
4. échelle volumétrique graduée
5. puits de réaction
6. fenêtre de lecture
- 10 7. première couche absorbante comprenant un colorant
8. deuxième couche absorbante
9. moyen de protection
10. cône de réaction

REVENDICATIONS

1. Module de réaction pour l'analyse biologique comprenant au moins un puit de réaction pour l'injection de liquide biologique et/ou de réactif permettant une
5 réaction biologique déterminée et comprenant au moins un moyen de contrôle de la quantité de liquide biologique et/ou de réactif injecté caractérisée en ce que le moyen de contrôle est une bandelette colorimétrique calibrée.
2. Module selon la revendication 2 caractérisé en ce qu'il comprend une échelle
10 graduée le long de la bandelette pour une détermination visuelle du volume.
3. Module de réaction pour l'analyse biologique comprenant au moins un puit de réaction pour l'injection de liquide biologique et/ou de réactif permettant une
15 réaction biologique déterminée et comprenant au moins un moyen de contrôle de la quantité de liquide biologique et/ou de réactif injecté caractérisée en ce que le moyen de contrôle est une pastille colorimétrique.

1/4

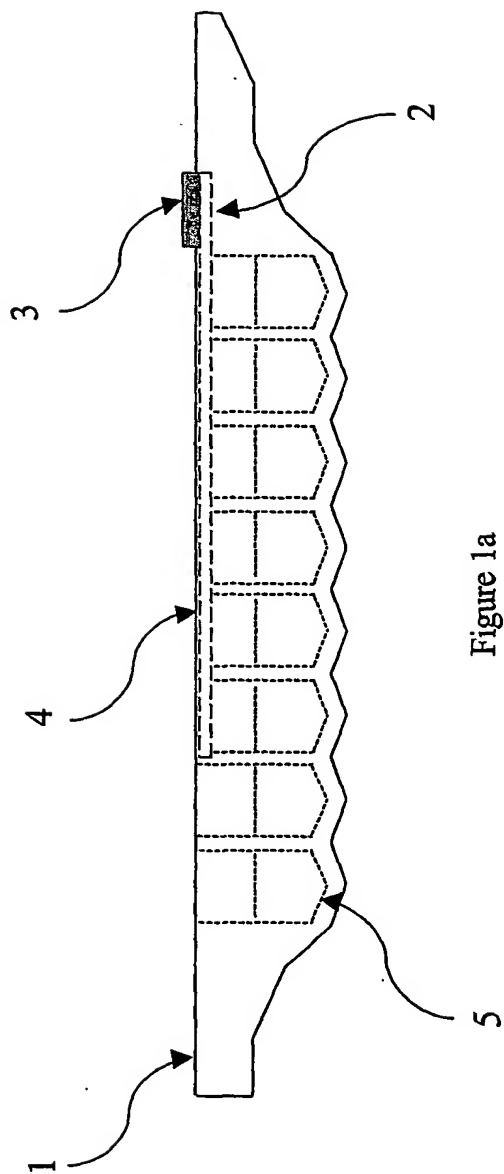


Figure 1a

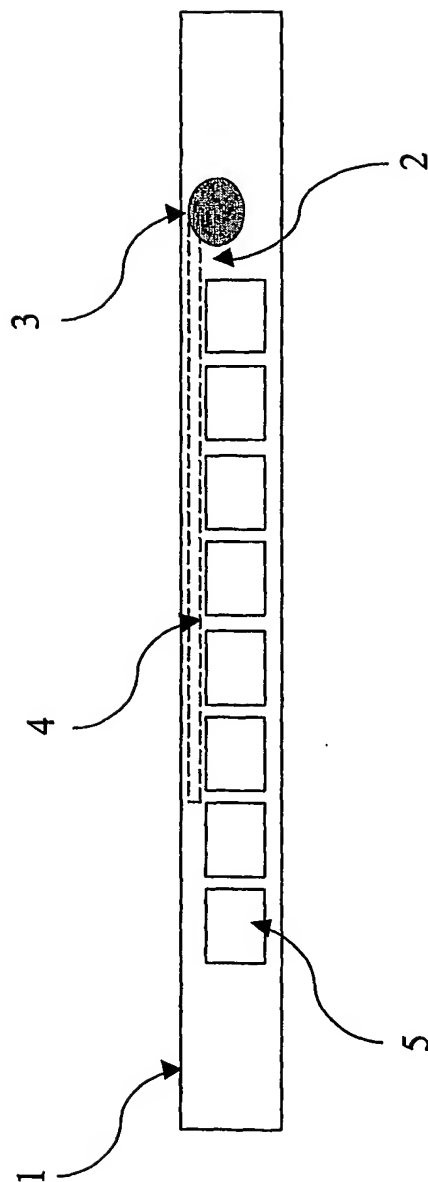


Figure 1b

2/4

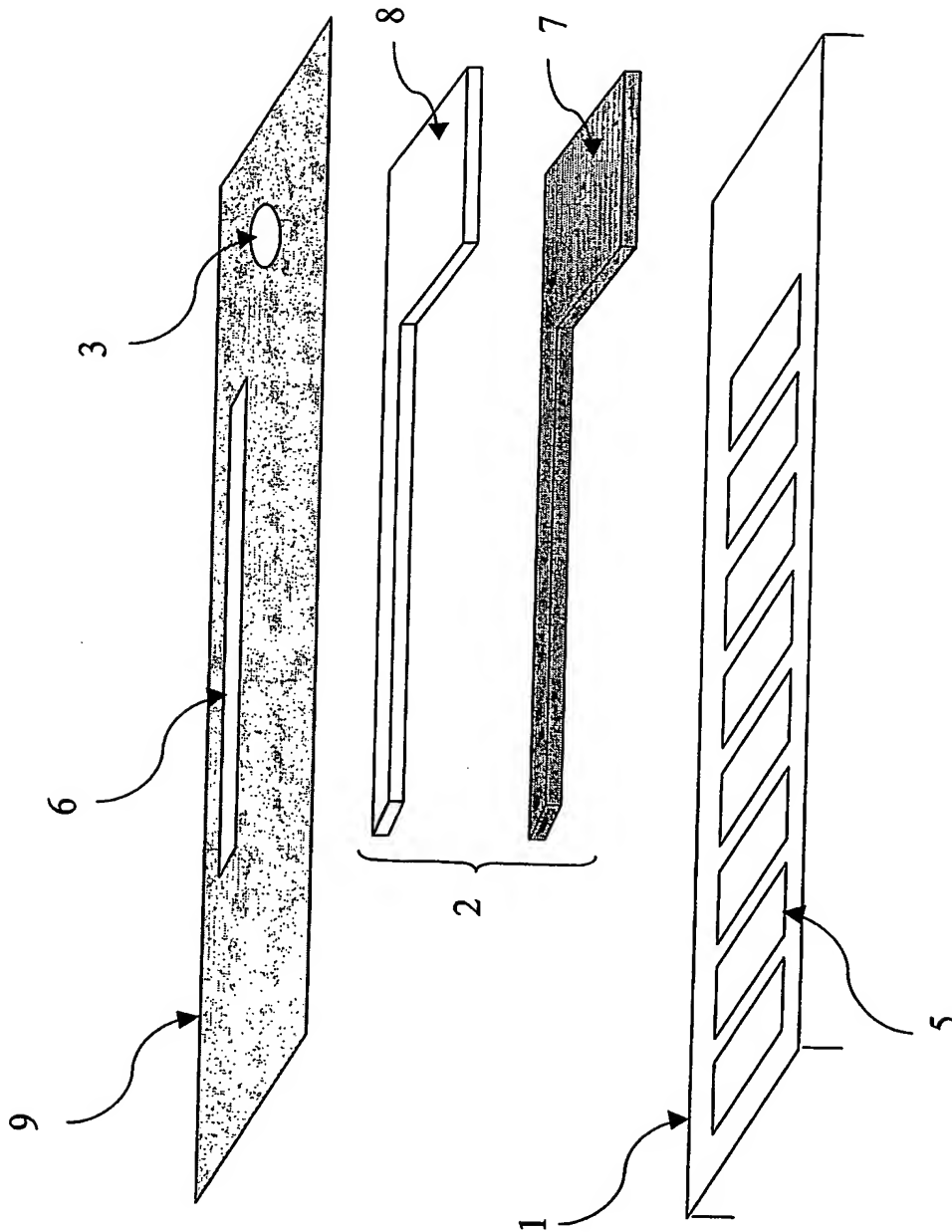
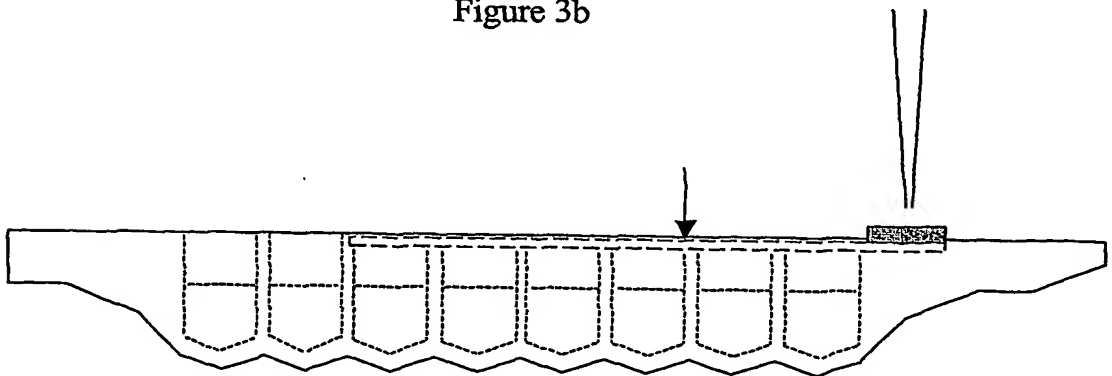
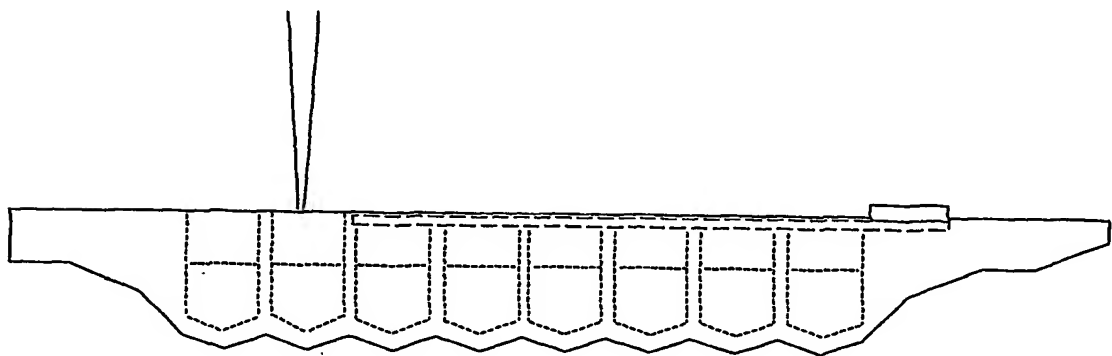
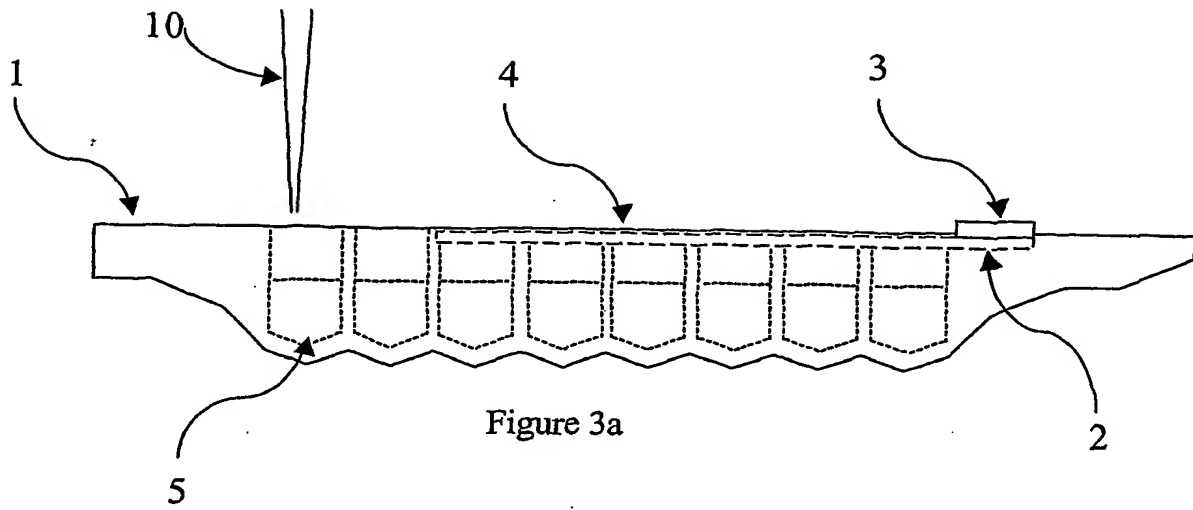


Figure 2

3/4



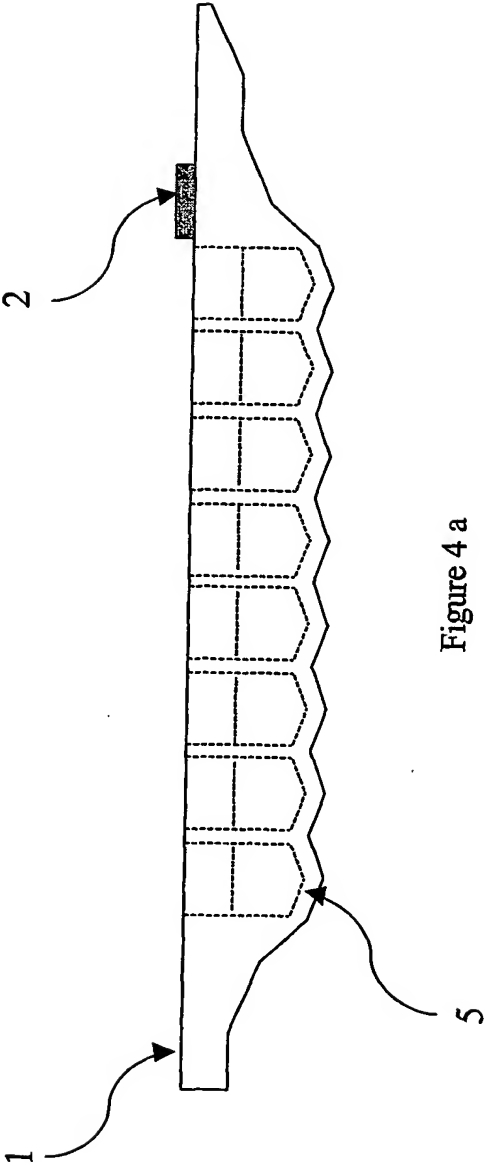


Figure 4 a

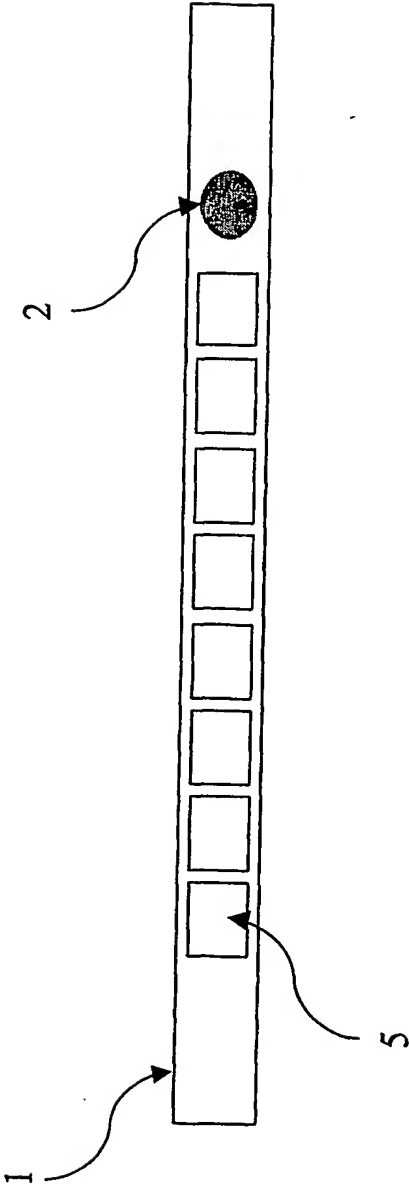


Figure 4 b